

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20390015

研究課題名（和文） 免疫・神経クロストークの分子イメージングと医療への展開

研究課題名（英文） Neuro-immune cross talk with molecular imaging and medicine

研究代表者

中西 守 (NAKANISHI MAMORU)

愛知学院大学・薬学部・教授

研究者番号：90090472

研究成果の概要（和文）：マウスの神経節から初代培養神経細胞を神経成長因子の存在下で培養し、神経細胞と免疫細胞（マスト細胞）との共存培養システムを確立した。次いで、分子イメージング法を用いて両細胞の相互作用を追究した。神経細胞からのサブスタンスPがマスト細胞を活性化し、また、マスト細胞からのATPが神経細胞を活性化していることを解明した。さらに、細胞間相互作用には、接着分子CADM1が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We developed a unique technique for studying neuro-immune interaction with confocal laser scanning fluorescence microscopy. We found that nerve-mast cell communication can occur in the absence of an intermediary transducing cell and that the neuropeptide substance P, operating via NK-1 receptors, is a soluble factor of this communication. In addition, we showed that ATP which is released from activated mast cells mediates the activation of nerve cells. Further, we found CADM1 (cell adhesion molecule 1) play an important role of the communication between mast cells and nerve cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2011年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：生物物理化学

1. 研究開始当初の背景
免疫系と神経系は生体内の独立したシス

テムであるかのように考えられてきた。しかし、近年の免疫学と神経科学の急速な進展は、

免疫系と神経系との間には密接な相互作用（クロストーク）が存在し、両者の相互作用により生体の恒常性が維持されていることが明らかになってきた。しかし、このような神経系と免疫系の相互作用については、適切な研究手段がなく、これまで十分な解析はなされていなかった。

2. 研究の目的

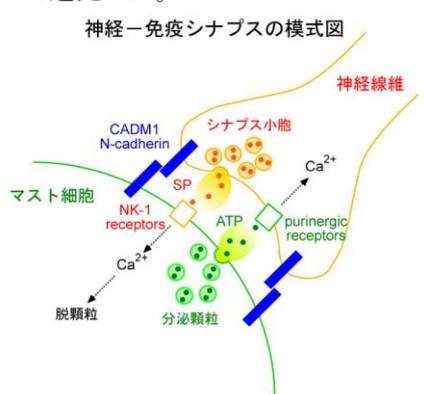
研究代表者らが開発した *in vitro* 共存培養システムを基盤に顕微光学法により、末梢及び中枢での神経・免疫クロストークを多角的に機能解析し、クロストークの分子機構を解明するとともに、その研究成果を基盤に各種疾患（神経変性疾患、ストレス、アルツハイマー、自己免疫疾患等）の治療薬探究を目指す。

3. 研究の方法

神経初代培養細胞と免疫細胞の共存培養システムと顕微光学技術を駆使し、①免疫・神経共存培養系での分子イメージングと機能解析、②抹消から中枢への高次機能解析、③クロストークの分子機構解明、及び、④医療（神経変性疾患、ストレス、アルツハイマー治療薬等）への展開を行う。

4. 研究成果

新生児マウスの神経節から初代培養神経細胞（交感神経 S C G 及び感覚神経 D R G）を神経成長因子（N G F）の存在下で培養し、初代培養神経細胞と免疫細胞（マスト細胞）との共存培養システムの確立を基盤にして、分子イメージング技術を駆使して、マスト細胞（R B L 細胞及び初代培養マスト細胞 B M M C）と神経細胞（S C G 及び D R G）との相互作用を、*in vitro* の共存培養システムを用いて追究した。



その結果、上図のように神経細胞からはサブスタンス P が放出され、中間に介在する細胞の関与はなく、サブスタンス P がマスト細胞を直接活性化していることを明らかにした。また、逆方向のシグナルとして、マスト細胞の受容体の特異的に活性化するとマスト細胞

から A T P が放出され、神経細胞を活性化することも明らかになった。さらに、両細胞の相互作用には、接着分子の N-cadherin や C A D M 1 が重要な役割を果たしていることを分子イメージング法を駆使して解明した。交感神経とマスト細胞の相互作用の際には、C A D M 1 はホモフィリックな結合で、また、感覚神経との相互作用の際には、ヘテロフィリックな結合で相互作用することも明らかにした。さらに、このような研究成果を推進・展開させ、大脳の発育に応じて大脳の神経・マスト細胞の相互作用に 4 種類の C A D M 1 の異性体が関与している可能性を明らかにした。これらの研究成果は医療への展開に多大の貢献をすると判断された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 21 件）

- ① Furuno, T., Nakanishi, M. : A rational approach to inducing neuronal differentiation in embryonic stem cells, in Lovrecic, K. (Ed), Embryonic Stem Cells: The Hormonal Regulation of Pluripotency and Embryogenesis, InTech、査読有、 pp429-444 (2011).
- ② Hagiwara, M., Furuno, T., Hosokawa, Y., Iino, T., Ito, T., Inoue, T., Nakanishi, M., Murakami, Y., Ito, A. : Enhanced nerve-mast cell interaction by a neuronal short isoform of cell adhesion molecule-1, C A D M 1. *J. Immunol.*、査読有、 **186**, 5983-5992. (2011)
- ③ Furuno, T., Nakanishi, M. : Analysis of neuro-immune interactions by an *in vitro* co-culture approach, in Merighi, A. (Ed), Neuropeptides: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology、査読有、 vol. 789, Springer, pp171-180. (2011)

- ④ Inoh, Y., Furuno, T., Hirashima, N., Kitamoto, D., Nakanishi, M.: Rapid delivery of small interfering RNA by biosurfactant MEL-A-containing liposomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*、査読有、**414**, 635-640. (2011)
- ⑤ Tadokoro, S., Nakanishi, M., Hirashima, N.: Complexin II regulates degranulation in RBL-2H3 cells by interacting with SNARE complex containing syntaxin-3. *Cell. Immunol.*、査読有、**261**, 51-56. (2010)
- ⑥ Miyazu, S., Furuno, T., Nakanishi, M.: Phosphorylation states of STAT3 and ERKs in mouse embryonic stem cells. *Cell Biol. Int.*、査読有、**34**, 485-492. (2010)
- ⑦ Inoh, Y., Furuno, T., Hirashima, N., Kitamoto, D., Nakanishi, M.: The ratio of unsaturated fatty acids in biosurfactants affects the efficiency of gene transfection. *Int. J. Pharm.*、査読有、**398**, 225-230. (2010)
- ⑧ Sugimoto, Y., Furuno, T., Nakanishi, M.: Effect of NeuroD2 expression on neuronal differentiation in mouse embryonic stem cells. *Cell Biol. Int.*、査読有、**33**, 174-179. (2009)
- ⑨ Nakanishi, M., Inoh, Y., Kitamoto, D., and Furuno, T.: Nano vectors with a biosurfactant for gene transfection and drug delivery (review). *J. Drug Deliv. Sci. Tech.*、査読有、**19**, 165-169. (2009)
- ⑩ Nakanishi, M. and Furuno, T.: Molecular basis of neuroimmune interaction in an in vitro coculture approach (review). *Cell. Mol. Immunol.*、

査読有、**5**, 249-259. (2008)

[学会発表] (計 34 件)

- ① 伊納義和, 古野忠秀, 平嶋尚英, 北本 大, 中西 守: バイオサーファクタント含有正電荷リソソームを用いた siRNA 細胞内導入ベクター開発、第 84 回日本生化学会大会、京都、2011 年 9 月 22 日
- ② 古野忠秀, 伊藤彰彦, 細川陽一郎, 中西守: 神経・マスト細胞相互作用における接着分子 CADM1 の研究、第 84 回日本生化学会大会、京都、2011 年 9 月 22 日
- ③ 古野忠秀, 伊藤彰彦, 中西 守: 共存培養系を用いた神経線維と膵臓 α 細胞の相互作用の解析、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 27 日
- ④ 古野忠秀, 伊藤彰彦, 中西 守: 神経と膵臓 α 細胞の相互作用における接着分子 CADM1 の機能解析、第 30 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、札幌、2008 年 8 月 6 日

[図書] (計 1 件)

- ① 中西 守, 古野忠秀 じほう、薬品分析科学の最前線 2009、pp172-173

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等
無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中西 守 (NAKANISHI MAMORU)
愛知学院大学・薬学部・教授
研究者番号：90090472

(2) 研究分担者

古野 忠秀 (FURUNO TADAHIDE)
愛知学院大学・薬学部・准教授

研究者番号：80254308

伊納 義和 (INOH YOSHIKAZU)
愛知学院大学・薬学部・講師
研究者番号：90434547

手島 玲子 (TESHIMA REIKO)
国立医薬品食品衛生研究所・代謝生化学
部・部長
研究者番号：50132882